

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 63-005019
(43)Date of publication of application : 11.01.1988

(51)Int.Cl.

A61K 9/50
C12N 11/00

(21)Application number : 61-147912

(71)Applicant : RES DEV CORP OF JAPAN
TSUNODA HIDEO

(22)Date of filing : 24.06.1986

(72)Inventor : TSUNODA HIDEO

(54) MICROCAPSULED ULTRAFINE PARTICLE OF MAGNETIC SUBSTANCE CARRYING ORGANISM COMPONENT

(57)Abstract:

PURPOSE: The titled **ultrafine** particles advantageously usable for separation of cells, etc., having **high** dispersibility in solutions, corrosion resistance and environmental resistance, obtained by coating a core part consisting of ultrafine particles of **magnetic** substance through a binder with a high polymer and supporting an **organism** component on the **periphery** of the high polymer.

CONSTITUTION: Microcapsulated ultrafine particles consisting of a core material comprising ultrafine particles of magnetic substance such as Fe, Co, Ni, magnetite, ferromagnetic alloy thereof, etc., a coupling layer comprising a binder chemically bonded to the surface of the core material, such as a silane compound shown by the formula R-Si-X3 (X is halogen, alkoxy, alkylcarbonyloxy, etc.; R is vinyl or substituted vinylcarboxyloxyalkyl), a high polymer coated layer obtained by polymerizing the polymerizable functional group R of the binder with a polymerizable monomer (e.g., methyl acrylate or styrene) and an organism component such as enzyme, protein, antibody, etc., immobilized to the coated layer.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C), 1998,2003 Japan Patent Office

Best Available Copy

【特許請求の範囲】

【請求項1】 コイル、ヨークおよび磁石を有し、上方から見て円形に構成された磁気回路部を有するボイスコイルモータと、可動側のコイルまたは磁石と連結部材を介して連結され、部品のピックおよびブレース動作を行なうためのノズルとを備え、上記ノズルはボイスコイルモータの上方から見て磁気回路部から半径方向に突出した位置に配置され、上記ノズルの幅寸法を磁気回路部の外径より小さくしたことを特徴とするハンドリング装置。

【請求項2】 上記連結部材は、ボイスコイルモータの本体部に対して直動ガイド手段によって上下方向に移動自在にガイドされていることを特徴とする請求項1に記載のハンドリング装置。

【請求項3】 上記ボイスコイルモータの本体部の内部に、ノズルを原点位置へ復帰付勢するためのばね機構を設けたことを特徴とする請求項1または2に記載のハンドリング装置。

【請求項4】 上記ノズルとボイスコイルモータの本体部との間に、ノズルの位置を検出する位置検出用センサを設けたことを特徴とする請求項1ないし3のいずれかに記載のハンドリング装置。

【請求項5】 上記ノズルが磁気回路部の外径寸法より狭ピッチ間隔でかつ一列に配列されるように、請求項1ないし4のいずれかに記載のハンドリング装置を上記ノズルが交互に対向方向を向くように複数台千鳥状に配置したことを特徴とする部品組立装置。

【請求項6】 θ 軸回りに回転可能な複数のノズルを設け、これらノズルのうちの少なくとも1つのノズルを θ 軸方向に選択的に回転させる回転駆動手段を設けたことを特徴とする請求項1ないし5のいずれかに記載の部品組立装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明はボイスコイルモータを用いたハンドリング装置およびこのハンドリング装置を用いた部品組立装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 従来、小型の電子部品を基板などに実装する際などに、ボイスコイルモータを用いた部品組立装置が用いられている。ボイスコイルモータは、空圧を用いた実装機やソレノイドを用いた実装機に比べて、位置決め精度に優れ、部品に与える力を軽減できる点で優れている。

【0003】 図1はこのようなボイスコイルモータを用いたハンドリング装置100を多連配置した場合の実装機の平面図を示す。図において、101はコイル、ヨーク、磁石などから構成されるボイスコイルモータの磁気回路部、102はノズルであり、ノズル102は磁気回路部101の中心部に配置されている。なお、ノズル102は部品を吸着できるように、図示しないエア吸引

装置と接続されている。

【0004】 図のようにハンドリング装置1を多連配置した場合、隣合うハンドリング装置1同士が干渉し、ノズル102のピッチ間隔Pnを磁気回路部101の直径D以下にはできない。ハンドリング装置100を高速化しようとする、磁気回路部101の直径Dが大きくなるので、ノズル102のピッチ間隔Pnも必然的に大きくなってしまいうという欠点がある。

【0005】

【発明が解決しようとする課題】 このような問題を解消するものとして、特開平6-328327号公報、特開平7-136877号公報には、角形コイルの中にノズルを配置した構造の組立装置が提案されている。この組立装置の場合には、コイルが平面視長方形に構成されているので、その厚みを円形の磁気回路を備えたハンドリング装置に比べて薄くでき、これらハンドリング装置を隣接配置することでノズルのピッチ間隔を狭くできる利点がある。

【0006】 しかしながら、上記のような角形コイルを用いた組立装置では、円形コイルに比べて加工コストが高つくだけでなく、コイルの側面の2方向にはヨークが存在しないため、コイル全周をヨークで囲めない。そのため、磁気回路の効率が悪く、必要な推力を得るためにはコイルが大型になるという欠点がある。

【0007】 そこで、本発明の目的は、円形の磁気回路部を用いて磁気効率を高めるとともに、狭ピッチ間隔でノズルを配列可能なハンドリング装置を提供することにある。また、他の目的は、上記ハンドリング装置を用いて狭ピッチ間隔に配列された部品をピックおよびブレースすることができる部品組立装置を提供することにある。

【0008】

【課題を解決するための手段】 上記目的を達成するため、請求項1に記載の発明は、コイル、ヨークおよび磁石を有し、上方から見て円形に構成された磁気回路部を有するボイスコイルモータと、可動側のコイルまたは磁石と連結部材を介して連結され、部品のピックおよびブレース動作を行なうためのノズルとを備え、上記ノズルはボイスコイルモータの上方から見て磁気回路部から半径方向に突出した位置に配置され、上記ノズルの幅寸法を磁気回路部の外径より小さくしたことを特徴とするハンドリング装置を提供する。請求項5に記載の発明は、ノズルが磁気回路部の外径寸法より狭ピッチ間隔でかつ一列に配列されるように、請求項1ないし4のいずれかに記載のハンドリング装置を上記ノズルが交互に対向方向を向くように複数台千鳥状に配置したことを特徴とする部品組立装置を提供する。

【0009】 請求項1において、部品のピックおよびブレース動作を行なうためのノズルは、磁気回路部から半径方向に突出しており、ノズルの幅寸法は磁気回路部の

(19) 日本国特許庁 (JP)

(12) 特許公報 (B 2)

(11) 特許出願公告番号

特公平 7 - 2 5 6 6 4

(24) (44) 公告日 平成7年 (1995) 3月22日

(51) Int. Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 9/50	A			
B 0 1 J 13/04				
C 1 2 N 11/00				
		6345 - 4 G	B 0 1 J 13/02	A

発明の数 1

(全 9 頁)

(21) 出願番号 特願昭61-147912

(22) 出願日 昭和61年 (1986) 6月24日

(65) 公開番号 特開昭63-5019

(43) 公開日 昭和63年 (1988) 1月11日

特許法第30条第1項適用申請有り 第35回高分子学会年次大会高分子学会予稿集第35巻第3号 (昭和61年5月8日) 高分子学会発行第525頁に発表

(71) 出願人 999999999

新技術事業団

埼玉県川口市本町4丁目1番8号

(71) 出願人 999999999

日本真空技術株式会社

神奈川県茅ヶ崎市萩園2500番地

(72) 発明者 角田 英男

茨城県筑波郡大穂町花畑3丁目11番3号

(74) 代理人 弁理士 越場 隆

審査官 後藤 圭次

(54) 【発明の名称】 生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子

1

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 磁性体超微粒子からなる芯材と、この芯材の表面と化学結合し且つ重合性官能基を有する結合剤からなるカップリング層と、結合剤の上記重合性官能基と少なくとも 1 種の重合性単量体との重合により得られた高分子被覆層と、該高分子被覆層に生体成分を固定化した担持層とで構成されることを特徴とする生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子。

【請求項 2】 上記磁性体超微粒子が、鉄、コバルト、ニッケル、マグネタイト及びこれらの強磁性合金及び化合物から成る群から選ばれることを特徴とする、特許請求の範囲第 1 項記載の生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子。

【請求項 3】 上記結合剤は、一般式

$R-Si-X_3$

2

【ただし X は、ハロゲン、アルコキシ基、アルキルオキシアルキレンオキシ基またはアルキルカルボニルオキシ基 (3 個の X は同一である必要はない) であり、R はビニル基または、置換ビニルカルボニルオキシアルキル基である】

を有するシラン系化合物であることを特徴とする特許請求の範囲第 1 項または第 2 項記載の生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子。

【請求項 4】 上記シラン系化合物が、ビニルトリエトキシシラン、ビニルトリアセトキシシラン、ビニルトリス (β-メトキシエトキシ) シラン、ビニルトリクロロシラン、γ-メタクリロキシプロピルトリメトキシシランおよびビニルトリメトキシシランから成る群から選ばれることを特徴とする特許請求の範囲第 3 項に記載の生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子。

【請求項5】上記重合性単量体が、メチルアクリレート、エチルアクリレート、ベンジルアクリレート、アクロレイン、*o*-、*m*-、*p*-メチルスチレン、*o*-、*m*-、*p*-エチルスチレン、ビニルナフタレン、ビニルトルエンおよびスチレンから成る群から選ばれる少なくとも1種から成ることを特徴とする特許請求の範囲第1項ないし第4項のいずれか1項に記載の生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子。

【請求項6】上記生体成分が、酵素、蛋白、抗体の中から選ばれた1種であることを特徴とする特許請求の範囲第1項ないし第5項のいずれか1項に記載の生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子。

【発明の詳細な説明】

産業上の利用分野

本発明は、マイクロカプセル化磁性体超微粒子に関し、更に詳細に言えば、大巾に改質し機能化され、細胞の分離、アフィニティークロマト用支持体等として有用な生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子に関するものである。

従来の技術

現在、有機、無機及び金属などの微粒子は、窯業材料、顔料、薬品あるいは電子材料として多くの工業領域で用いられている。特に、磁性体微粒子は、磁場誘導あるいは磁場による選択的分離回収が可能である等の特質を有している為、例えば磁性流体、磁性インクなどの成分、あるいは医薬物質、触媒、生体高分子および微生物、細胞等の担体として種々の利用分野が開拓されつつある。このような産業上多岐にわたる微粒子および磁性体微粒子の使用頻度の上昇に伴い、微粒子の高性能化に対する必要性が高まりその研究開発が注目されている。

例えば、微粒子の特性を高度化する方法として超微粒子化があり、粒径 α が $1\text{nm} \leq d \leq 100\text{nm}$ である超微粒子の製造方法が既に提案されている。超微粒子となると、従来の微粒子と比較して、様々な物理的、化学的特性が改善あるいは改質される。例えば、単位グラムあたりの表面積（比表面積）が非常に大きくなり、その結果、融点が低下する、表面張力が大きく内部高圧である、磁性体材料からなる超微粒子はきわめて強磁性である、熱伝導性および光の吸収が良い等様々な特性が超微粒子化の結果としてもたらされる。

このような特質を有する超微粒子を工業的に応用するに際しては、微粒子素材の複合化（マイクロカプセル化等）による表面改質や高機能化が重要な課題となる。例えば、マイクロカプセル化の1つの目的は、高い活性を有する微粒子表面を高分子被覆等により保護することにより、耐食性、粒子分散性を改善することにより、例えば、磁性体微粒子においては、強磁性微粒子を界面活性剤を用いて媒体中に分散させて磁性インク（特開昭57-105468号）を作製する場合、あるいはこれを担体として用いる場合等の担持操作等において上記耐食性および分

散性は不可欠の条件である。

更に別の目的として他の材料との複合化により、本来その微粒子の持つ特質の別の機能あるいは特質を付与し、使用することが挙げられる。特に医薬物質、酵素等の生体高分子および触媒用の担体として磁性体微粒子あるいはその複合物をマイクロカプセル化する方法が近年注目されている。

微粒子は、大きな塊状物と比較して、そのグラム単位当りの表面積が大きく、従ってこれを担体として用いた場合、医薬物質、酵素あるいは触媒などの高い活性並びに有効性を維持するのに好適である。さらに、磁性体超微粒子あるいはその複合物微粒子を担体として用いることにより以下に述べる様な利点をえることができる。

例えば、薬剤においては、磁場誘導によって医薬物質を病巣ないし病巣付近の部位に選択的に到達せしめ、該到達箇所において、その医薬的効力を発揮し得る。医薬として体内に投与される種々の物質の中には、直接治療対象部位である病巣にのみ作用させ、正常組織に対する副作用を最小ならしめることが望まれる物があり、例え

ば、制癌剤などはその代表的なものである。従って、磁性体超微粒子を含有するマイクロカプセルは、この種の医薬物質に好適に使用し得るものである。

また酵素、触媒においては、酵素および触媒を所定の反応に使用した後、さらに磁場をかけることにより選択的に分別できるので、再利用が容易となる。酵素および触媒は、みずからは化学的変化を起さず、対象の化学反応速度を速め、選択的に目的物を生成させる等の特性を有しており、複数回の反応に利用することが能率的、経済的である場合が多い。しかしながら、酵素は通常可溶性であり、事実上、分離の後再度利用することは不可能である。従って不溶性となすために酵素を不溶性物質に担持させることが望ましい。その担体として磁性体微粒子は、比活性の保持、分離の容易さ等の点で優れており、効果的に使用できる。また、触媒の場合においても、同様に比活性の維持、分離の容易さ等の理由により、磁性体微粒子を担体として用いることが好ましい。また、このような磁場による分離回収が可能であるという特質は、相補性DNA分離あるいは、特定のバクテリアなどの細菌の分離等への利用も可能となる。

近年、磁性体微粒子および医薬物質からなるマイクロカプセルとして、医薬物質を有機高分子物質（エチルセルロース、ゼラチン、アルブミン等）により被覆せしめ、さらに磁性体微粒子を固着させるか、あるいは、医薬物質および磁性体の混合物からなる微粒子を有機高分子物質により被覆せしめた例（特開昭56-51411号）が報告されている。

また、磁性体微粒子および酵素からなるマイクロカプセルとして、磁性体微粒子を分散せしめた多孔質微粒子を過剰の二官能性試薬で架橋したポリアミンで含浸せしめ、さらにそのポリアミンに酵素を結合させた例（特開

昭59-28477号)も報告されている。

発明が解決しようとする問題点

しかしながら、上記したような従来例は、以下に詳述する様な各種問題点を有していた。

即ち、特開昭56-51411号の開示するマイクロカプセル化剤は、芯部を磁性体粒子が分散された医薬物質とし、有機高分子材料で被覆するか、もしくは、芯部を医薬物質とし、磁性体粒子が分散された有機高分子材料で被覆していることから、比較的粒径の大きなものとならざるを得ない。その結果、毛細血管への移行が困難であり、真に病巣部分に到達し得ず、病巣部位での薬理効果が低く、かつ正常組織に副作用を起こす危険性が高いという問題点を有している。さらに、本方法においては、磁性体微粒子の保護が完全でなく、はなはだしい場合には、外部に露出している。従って、体内移動中に該磁性体微粒子が溶解し、磁場誘導が効果的に行われなくなるばかりか、溶解した微粒子元素が生体に何等かの悪影響を及ぼす危険性がまったくないとはいいきれない。

また、特開昭59-28477号開示の磁性支持マトリックス及び固定化酵素は、芯部としての多孔質耐火性無機酸化物をポリアミンで含浸しただけの構成をとっているため、その被覆膜と、芯部との結合強度が低く、さらに被覆が不完全である可能性があり、耐食性、耐環境性に劣るという問題があった。

この様な、従来の磁性体微粒子を担体として用いた場合の問題点を解決することができ、さらに耐食性、耐環境性に優れ、かつ高機能化されたマイクロカプセル化磁性体超微粒子およびその製造法を開発することは非常に重要なことである。

そこで、本発明者等は既に磁性体超微粒子を芯部とし、これと強く結合した被覆を有し、特に耐食性、耐環境性の点で大巾に改善されたマイクロカプセル化磁性体超微粒子を開発し、既に特願昭60-223133号(特開昭62-83034号)として別途特許出願している。

本発明は上記マイクロカプセル化磁性体超微粒子の応用に係り、その目的は、磁性体超微粒子を芯部に有し、これと結合剤を介して高分子を被覆して、該高分子の周囲に、酵素、蛋白、抗体等の生体成分を担持したマイクロカプセル化磁性体超微粒子を提供することにある。

本発明の別の目的は、上記生体成分担持マイクロカプセル化磁性体微粒子の製造法を提供することにある。

問題点を解決するための手段

本発明者は、上記の従来例のごとき諸問題点を解決し、上記本発明の目的を達成すべく種々研究、検討した結

果、本発明を開発した。

即ち、本発明によるマイクロカプセル化磁性体超微粒子は、

(i) 磁性体超微粒子からなる芯材、

(ii) 該芯材の表面と化学結合し且つ重合性官能基を有する結合剤からなるカップリング層、

(iii) 該結合剤の上記重合性官能基と少なくとも1種の重合性モノマーとの重合により得られる高分子被覆層、および

10 (iv) 該高分子被覆層に固定された生体成分からなることを特徴とする。

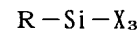
本発明のマイクロカプセル化磁性体超微粒子において、使用する磁性体芯材としては、公知の各種のものが使用可能である。ただし、その表面に該芯材と結合剤とを化学的に結合する必要上、該芯材はその表面上に水酸基などの活性基を有することが要求される。

そこで、本発明のマイクロカプセル化磁性体超微粒子に使用する磁性体芯材を具体的に示せば、強磁性鉄、ニッケル、コバルトあるいはマグネタイト及びこれらの強磁性合金または化合物が挙げられる。

20 また、該磁性体芯部は、超微粒子であり、該磁性体超微粒子は、例えば希ガス中で磁性体を加熱蒸発させ、得られる蒸気を希ガス中で凝結させて超微粒子化する方法

(ガス中蒸発法)、電気抵抗体、プラズマジェット、インダクションレーザ等、種々の公知の技術によって得ることができる。

次に本発明で使用する重合性結合剤は、一般式

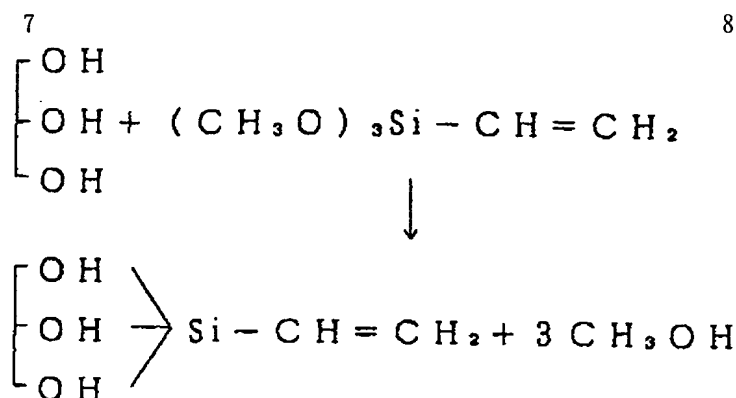


30 [ただしXは、ハロゲン、アルコキシ基、アルキルオキシアルキレンオキシ基またはアルキルカルボニルオキシ基(3個のXは同一である必要はない)であり、Rはビニル基または、置換ビニルカルボニルオキシアルキル基である]

を有するシラン系化合物であり、例えば、ビニルトリエトキシシラン、ビニルトリアセトキシシラン、ビニルトリス(β -メトキシエトキシ)シラン、ビニルトクロロシラン、 γ -メタクリロキシプロピルトリメトキシシラン、ビニルトリメトキシシラン等を挙げることができる。

40 これら結合剤は、前記無機芯剤の表面上に存在する水酸基あるいは化学吸着した水分子との縮合反応により、該芯材と化学的に結合する。

この反応メカニズムをビニルトリメトキシシランを例にとりて説明すると：



となるものと思われる。

またこの反応式により明らかなように、上記結合材は他方で重合性単量体との重合により、高分子被覆層を形成するための重合性官能基Rを提供する。

更に、前記重合性単量体としては、例えば、メチルアクリレート、エチルアクリレート、2-ヒドロキシエチルメタクリレート、ベンジルアクリレート、エチレングリコールメタクリレート等のアクリル酸エステル類、アクロレイン等の官能基を有する官能性モノマー、*o*-、*m*-、*p*-メチルスチレン、*o*-、*m*-、*p*-エチルスチレン、ビニルナフタレン、ビニルトルエンおよびスチレン等を挙げることができ、これ等は2種以上混合して使用することも可能である。これらの重合性単量体は、該マイクロカプセル化磁性体超微粒子に担持すべき抗体、酵素あるいはその他のタンパク等に応じて、適当に選択するかあるいは、特定の官能基を導入することが可能であり、例えば担持させる物質が酵素等のアミノ基を有する場合、上記重合性単量体としてアクロレインなどのアルデヒド基を有するものを使用し共重合させると、表面にアルデヒド基が存在することとなり、アミノ基と特異的に反応しやすい表面が得られる。

かくして、本発明の生体成分を担持する磁性体超微粒子では該生体成分として酵素例えばグルコースオキシダーゼ、グルコースイソメラーゼ、インペルターゼ、カタラーゼ、アミノアシラーゼ、リパーゼ、コリンオキシダーゼ、グルタミン酸デカルボキシラーゼ、リシンデカルボキシラーゼ、ペルオキシダーゼ、 α -キモトリプシン等の各種のものが、また抗体としてはヒトあるいは動物のIgA、IgD、IgE、IgG、IgM（これらの各種サブクラスを含む）などが、更にその他の蛋白としてはアルブミン、グロブリン、プロラミン、グルテリン、ヒストン、プロタミン、硬タンパク、核タンパク、糖タンパク、リボタンパク、色素タンパク、金属タンパクなどが例示でき、更には各種抗原、毒素などもこの生体成分に含まれる。本発明によると、マイクロカプセル化磁性体超微粒子は、以下の工程により製造される。

即ち、本発明によるマイクロカプセル化磁性体超微粒子の製造法は、(i) 従来公知の方法で得られた磁性体超微粒子の芯材と結合剤とのカップリング反応を行い、次

に(ii) 芯材表面の結合剤と少なくとも1種の重合性単量体との重合を行い、更に(iii) 重合体表面に生体成分を固定化することからなる。

前記磁性体芯材と結合剤とのカップリング反応は、まず磁性体超微粒子である芯材、結合剤及び不活性溶媒を混合し、所定時間、加熱攪拌することにより行なわれる。得られた反応物は、該溶媒により洗浄し、乾燥する。

ここにおいて使用可能な不活性溶媒としては、磁性体剤および結合剤に対して非反応性であり、かつ相溶性のものであればいかなる溶媒でもよく、例えばイソオクタン、石油ベンジン、ベンゼン、トルエン、石油エーテル、*n*-ヘキサン、シクロヘキサン、メタノール、エタノール、イソプロパノール、アセトン、エチルエーテル等を挙げることができる。

次に行なわれる芯材表面上の結合材と重合性単量体との重合反応は、まず前記カップリング反応により得られた反応生成物と、不活性溶媒と、少なくとも1種の重合性単量体とを混合し、所定温度に加熱後、重合開始剤を加え、上記温度を保ちながら所定時間攪拌を続け、芯材表面上の結合材の重合性官能基および重合性単量体を重合させることより成る。

この工程において、使用可能な不活性溶媒は、結合材、重合性単量体および重合開始剤と、非反応性であり、かつ相溶性であり、また該芯材および該重合反応生成物と非反応性であればよく、例えばアミルアルコール、流動性パラフィン類、メチルイソカルビトール、ヘプタン、ブタノール、トルエン等を挙げることができる。

更に、重合開始材としては、過酸化ベンゾイル、過酸化ラウロイル、アゾビスイソブチロニトリル、*t*-ブチルパーオキシド、*t*-ブチルパーオキシイソプロピルカーボネート、2,2'-アゾビス-2,4-ジメチルなどを例示できる。これら2つの反応に用いられる不活性溶媒および反応開始剤の組み合わせは、マイクロカプセル化磁性体超微粒子に用いられる芯材、結合剤および重合性単量体の種類、性質に応じて適当に組み合わせることが好ましい。

かくして、得られる本発明のマイクロカプセル化磁性体超微粒子は、分散性、耐食性に優れ、かつ非常に微細である。また担体として用いる場合、担持する生体成分に

20

30

40

50

合わせて、その被覆を適宜変えることが可能である。即ち、これによって例えば表面の親水性等を制御できる。次いで、かくして得たマイクロカプセル化磁性体超微粒子上に生体成分を固定するが、これは従来公知の各種酵素固定化法、あるいはその改良法により行うことができる。就中、担体結合法である共有結合法および架橋法を有利に使用できる。例えば、共有結合法による場合には磁性体超微粒子のマイクロカプセル化の際に2-ヒドロキシエチルメタクリレート (HEMA) やアクロレイン等を共重合により組込み、表面にアミノ基との反応性の高いアルデヒド基等を導入し直接共有結合させることにより固定できる。

また、上記マイクロカプセル化磁性体超微粒子担体として、酵素、抗体、その他の蛋白、核酸等を担持させる場合、これらの物質中の特定の基あるいはサイトにスペーサと呼ばれる介在分子を結合させ、該スペーサを介してマイクロカプセル層上の官能基にカップリングさせることが一般に望ましいとされている。このようなスペーサとしてはアシル化剤、アルキル化剤、ジアミンなどが用いられる。

例えば、アルキル化剤としては、ハロカルボン酸；ラクトン、エポキシ等の環状混合物；アルデヒド等を上げることができ、ハロカルボン酸としては、4-ハロ吉草酸、5-ハロカプロン酸等を用いることができる。また、ラクトンとしては、 β -、 γ -、 σ -および ϵ -ラクトンが、アルデヒドとしては、グルタルアルデヒド、テレフタルアルデヒド等が、さらにエポキシとしては、エチレンオキシド、トリメチレンオキシド等がそれぞれ有効に使用できる。

また、アシル化剤としては、酸クロリド、酸無水物、ラクタム、脂肪族ジイソシアネート等を上げることができる。酸クロリドとしては、例えばテレフタロイルクロリド、 β -ホルミルプロピオン酸クロリド等を上げることができ、さらに、ラクタムとしては、 β -プロピオラクタム、 δ -バレロラクタム等が挙げられる。

また、ジアミンとしては、例えばヘキサメチレンジアミン、ヘプタメチレンジアミン等が挙げられる。

更に、勿論架橋法において多用されている各種架橋試薬、例えばグルタルアルデヒド、ペプチド結合を形成するイソシアン酸誘導体、ジアゾカップリングするビスジアゾベンジジン、N,N'-ポリメチレンビスヨードアセトアミド、N,N'-ポリメチレンビスマレイミドなどを使用して固定化することもできる。

作用

超微粒子の工業的利用において、磁場誘導、あるいは磁場による選択的分離、回収が可能であるとの特質により磁性体超微粒子が注目されており、本発明の生体成分を固定化したマイクロカプセル化磁性体超微粒子では、芯剤として、磁性体超微粒子を用いている。

すでに述べた様に、超微粒子の効果的かつ広範な産業へ

の応用の為には、その表面の巧妙な改質と修飾が必要である。超微粒子表面を改質あるいは修飾するためには、その表面に高分子化合物により被覆する方法が効果的であり、その方法としては、芯材である超微粒子と、被覆する高分子とを結合剤を介して共有結合させる方法を採用している。

超微粒子の被覆法は、芯剤である超微粒子表面の水酸基等と、結合剤であるシランカップラーとのカップリング反応により化学結合させ、しかる後にこのカップリング反応により超微粒子表面に化学結合したシランカップラーの重合性官能基と重合性単量体とを重合させることにより超微粒子表面の被覆を得ている。

本発明によれば超微粒子に均一な高分子膜をマイクロカプセル化することができる。

更に、本発明によると、超微粒子の支持体である水不溶性の被覆層すなわち高分子と、蛋白、抗体、酵素などとは共有結合で結合して固定化されている。従って、蛋白、抗体、酵素などと共有結合によって強く結合しているため、高濃度の基質溶液あるいは塩類溶液などによって簡単に脱離しないという利点を有している。この点で物理的吸着法やイオン結合法を用いる担体結合法よりも優れていると言える。

本発明による、マイクロカプセル化磁性体超微粒子は、磁性流体を用いることにより磁場誘導あるいは選択的分離、回収が可能であるが、以上述べた様な構成とすることによりさらに以下の特徴を有する。

即ち、生体成分の担体となる磁性体超粒子の直径が数十Å〜数千Åの範囲であるため、得られる生体成分担持マイクロカプセル化磁性体超微粒子も、非常に微細なものとなる。

また、マイクロカプセル化により超微粒子表面電荷が負となり、溶液中での分散性が大であり、従って担持された基質の均一分散性が保証される。

さらに超微粒子表面と化学結合した強靱な被覆を有することにより、耐食性、耐環境性が優れている。

かくして、本発明による生体成分を担持する磁性体超微粒子は担持した生体成分の種類質に応じて、各種の用途に対して適用できる。例えば、所定の生体成分と特異的に結合し得る細胞の分離、アフィニティクロマトグラフィ用担体、あるいはバイオリクター用の構成要素として有利に使用でき、磁性体超微粒子の特徴に基き、容易に回収できる。従って、回収後再生、賦活処理を施した後にあるいはそのまま再利用できることになる。

本発明の生体成分を担持した磁性体超微粒子は外部比表面積が大きい（超微粒子であることによる）ことから、一般には均一相反応、流動床による反応等において有利に使用でき、高い単位体積当たりの含有率で使用できるので、極めて効果的である。

実施例

次に、本発明の生体成分担持マイクロカプセル化磁性体

超微粒子をその製造例に基き更に詳しく説明する。また、得られた製品の各種物性等についても併せ記載する。

参考例1 マイクロカプセル化磁性体超微粒子の製造
まず芯剤として、ガス中蒸発法によって作製した強磁性体の鉄超微粒子を用いた。形態は短径が約30nm、長径が約500nmの鎖状の超微粒子（超微粒子A）、及び平均粒径20nmの孤立超微粒子（超微粒子B）の二種類である。両者を以下の二段階に分けてマイクロカプセル化を行った：

第1段階：芯剤である超微粒子1gを、攪拌機を備えた丸底フラスコに導入後、結合材としてビニルトリメトキシシラン（VTS）0.5ml及び有機溶媒としてアセトンを100mlを添加し、50分間還流することによりカップリング反応を行なった。ついで上記反応により得られた生成物を遠心分離し、エタノールで洗浄し、乾燥した。

第2段階：次に、フラスコ内に該反応生成物、有機溶媒として酢酸エチルを100ml、および重合性単量体（ビニルモノマー）として、スチレン（ST）、アクロレイン、2-ヒドロキシエチルメタアクリレート（HEMA）から成る群から2種選択して、それらのビニルモノマーを適当な重量比率で、合計2g添加し、更にSDSを1%（w/v）添加し、攪拌しながら、60～70℃に加熱し、さらに重合開始剤としてアゾビスイソブチルニトリル（AIBN）100mgを添加する。該温度で維持し、2時間攪拌しながら重合反応を行なう。

かくしてマイクロカプセル化の完了した強磁性体超微粒子は、各々暗視野光学顕微鏡や電子顕微鏡により、そのマイクロカプセル化の状態及び膜の厚さ等を調べた。

得られた電子顕微鏡写真を添付第1図及び第2図に示した。添付第1図は超微粒子Aよりなるマイクロカプセルの電子顕微鏡写真の一例であり、第2図は超微粒子Bよりなるマイクロカプセルの電気顕微鏡写真の一例である。写真より明らかなように、超微粒子A及びBとも表面が一様に高分子に覆われていることが解かる。

各々の超微粒子の測定結果の例を第1表に示した。

第1表

	超微粒子A*	超微粒子B**
マイクロ化の状態	良好	良好
高分子膜厚（μm）	0.012	0.012

* 高分子被覆層：スチレン（50%）／HEMA（50%）

** 高分子被覆層：スチレン（10%）／アクロレイン（90%）

第1段階の完了後、VTS処理の際に鉄超微粒子に導入されたVTS量を同処理後の試料中の炭素分析により決定した。

その炭素含量の測定は、燃焼法を用いた。得られた結果

を第3図に示した。図中、横軸は処理時のVTSの濃度（wt%）であり、縦軸は鉄超微粒子に導入された炭素含量（wt%）である。図から明らかなように、VTSの濃度が約1wt%までは、該炭素含量が急速に増大するが、約1wt%を超えるとある一定の平衡値に近づいてゆくことが解かる。

次に、マイクロカプセル化前の鉄超微粒子及びVTS処理後の鉄超微粒子のζ電位を測定する。

ゼータ電位の測定は、超微粒子を水に適当な濃度で懸濁し、マルバーン社（Malvern Corporation）製のゼータサイザータイプII（Zeta Sizer Type II）を用いて測定した。

得られた結果の一例を第2表に示した。

第2表

	ζ電位（mV）
マイクロカプセル化前	+33
VTS処理後	-1.05
マイクロカプセル化後	-36

第2表の結果から、ゼータ電位がマイクロカプセル化後にはマイクロカプセル化前の正の値から、負の大きな値に変化している。従って、上記マイクロカプセル化超微粒子は極めて良好な分散性を有するものであることがわかる。また、ゼータ電位が負であり、これは後の生成成分の担持処理にとって存利である。

本例に記載の方法で得られたマイクロカプセル化超微粒子（A）及び非マイクロカプセル化超微粒子（該超微粒子の素材）についてフーリエ分光赤外吸収スペクトルを求めた。フーリエ分光赤外吸収スペクトルは拡散反射法により測定した。

マイクロカプセル化前後のスペクトルの比較によれば、マイクロカプセル化に伴うモノマー間の特異な結合に対応する特性吸収がみられた。

参考例2：

モノマーとして、MMA、ST、HEMA、EGDMAを選び、参考例1に記載の反応条件下で、各種のモノマー及び各種の仕込み量で、結合剤（VTS）を介して強磁性鉄超微粒子のマイクロカプセル化を行った。ただし、この例では有機溶媒としてトルエンを用いた。得られた製品の状態および分散性を評価した。

分散性の評価は、マイクロカプセル化された超微粒子100mgを100mlの溶媒に懸濁し、超音波を照射した後、10mlの試験管に分注して、沈降試験を実施した。その分散性は、10分後に粗大2次粒子を生ずるものとして半定量的に評価した。

また、超微粒子への高分子の被覆状態は暗視野光学顕微鏡や電子顕微鏡により、調べた。

得られた結果を第3表にまとめた。

13
第 3 表

VTS濃度 ($\text{g}/\text{V}\%$)1	溶媒100ml中のビニ ルモノマー(g)	分散性及び状態
0.25	HMA 1.0	良好
	HEMA 1.0	
0.25	ST 1.0	良好
	HEMA 1.0	
0.5	HMA 1.0	未被覆の粒子が 存在
	HEMA 1.0	
0.5	MMA 2.0	良好
	HEMA 1.0	
	EGDMA* 0.1	
1.0	MMA 2.0	少量の未被覆の 粒子が存在
	HEMA 1.0	
	EGDMA 0.1	

* エチレングリコールジメタアクリレート

次に、前記した参考例1に従ってマイクロカプセル化した超微粒子への生体成分の結合を行った。

製造例1:生体成分の結合

(i) 牛血清アルブミン (BSA) の結合

平均粒径 $30 \times 500\text{nm}$ の磁性鉄超微粒子の $1.5\text{mg}/\text{ml}$ 分散液 (PBS、 $\text{PH}=7.2$) に、 30°C にてBSAを $500\mu\text{g}/\text{ml}$ および $120\mu\text{g}/\text{ml}$ の割合で添加し、同温度にて3時間反応を行った。生成したBSA担持超微粒子を遠心分離し、PBSにて数回洗浄し、回収した。

(ii) グルコースオキシダーゼ (GOD) の結合

上記(i)と同様な超微粒子 30mg を、 30°C にて 20ml のPBS ($\text{PH}=7.2$) に分散させ、次いで 10mg のGOD (シグマ社 Sigma Chemical Company製) を加え、同温度で3時間反応させた。得られた生成物を遠心分離により回収し、PBSで3回洗浄した。

(iii) IgG-FITC (フルオレセインイソチオシアネート) の結合

超微粒子 2mg IgG $490\mu\text{g}$ を含むPBS 8ml 中に懸濁し、 4°C にて2時間結合反応を行う。その後超微粒子を遠心分離し、PBSで5回洗浄し、蛍光顕微鏡で観察し、IgGが結合されていることを確認した。また結合量は検量線法による蛍光測定で実施できる。

(iv) BSAおよびGODの結合量の決定

上記の如くして得たBSAおよびGODを担持した超微粒子BSAおよびGODの結合量はローリー法 (Lowry法) によって実施した。即ち、上記(i)および(ii)の条件下で所定の反応時間経過後の溶媒としてのPBSおよび洗液を併合し、その中に含まれるBSAおよびGODの量を公知のローリー法で決定した。

得られた測定結果の1例 (BSAの場合) を第4図に示した。図において曲線1及び2は、それぞれBSAの初期添加量が 500 及び $120\mu\text{g}/\text{ml}$ の時のデータである。このデー

(7)

特公平7-25664

14

タをもとに計算すると、 1g の超微粒子 (UFP) 当たりのBSAの結合量は $140\text{mg}/\text{gUFP}$ (初期添加量 $500\mu\text{g}/\text{ml}$) および $30\text{mg}/\text{gUFP}$ (初期添加量 $120\mu\text{g}/\text{ml}$) となった。

(v) : 生体成分の結合したUFPの分散性

BSA及びGODが結合したマイクロカプセル鉄超微粒子 (BSA-UFP及びGOD-UFP) のゼータ電位を前記の測定法で求め分散性を評価した。

得られた結果を第4表に示した。

第 4 表

	ζ 電位(mV)
BSA-UFP	-27
GOD-UFP	-32.8

(vi) : 固定化GODの活性

マイクロカプセル化鉄超微粒子に結合したGODの活性を測定した。活性の評価は溶存酸素電極法により行った。即ち、 4ml の 0.1M クエン酸-リン酸バッファー ($\text{pH}5.4$) に空気をバブリングして飽和させ、これに $1.5\text{mg}/\text{ml}$ の割合で(ii)で得た超微粒子を添加し、次いで 0.1ml の 0.5M のデキストロース溶液を添加した。この分散液の酸素濃度を溶存酸素測定電極を用いて追跡することにより決定した。活性は消費 O_2 の $\mu\text{mol}/\text{g UFP} \cdot \text{min}$ (IU/g) で表示した。得られた結果は、 $1330\mu\text{moleO}_2/\text{g} \cdot \text{UFP} \cdot \text{min}$ であった。この値はピー・イー・マーキー (P. E. Markey) 著のバイオテクノロジー・アンド・バイオエンジニアリング (Biotech. and Bioeng.) , Vol. X VII (1975) に記載のGODの活性のデータの約30倍であり、固定化後も非常に高い活性を維持していることが理解される。

発明の効果

一般に、生体成分を固定化することにより、熱、 pH 、有機溶媒などに不安定であり緩和な条件下でしか使用できず、比較的失活し易いという生体成分の問題点が解消され、適当な特異性を有し、高い活性を維持でき、固体の化学触媒と同様に取扱うことができることは公知である。本発明の生体成分担持マイクロカプセル化超微粒子は、微粒子として強磁性体を用いているために、磁場誘導による選択、分離、回収が可能である。従って、回収後に再生、賦活化等を行いあるいは行うことなく再利用することができる。これは高価な酵素等を用いる場合には経済的に極めて有利である。また本発明によるマイクロカプセル化磁性超微粒子は、微細であるため、毛細血管等への移行が容易であり各種の生体成分を目的とする生体部位に運搬し得る。

近年、生体成分を固定化して治療への応用も考えられている。酵素療法は日々重要性を増しつつあり、これには固定化アスパラギナーゼ、酵素欠損症、免疫吸着が挙げられる。更に、人工腎臓、人工肝臓、人工脾臓として人工臓器への応用も考えられ、抗血栓性材料、遊離ヘモグロビン除去材料として生体適合性医療材料へも応用で

10

20

30

40

50

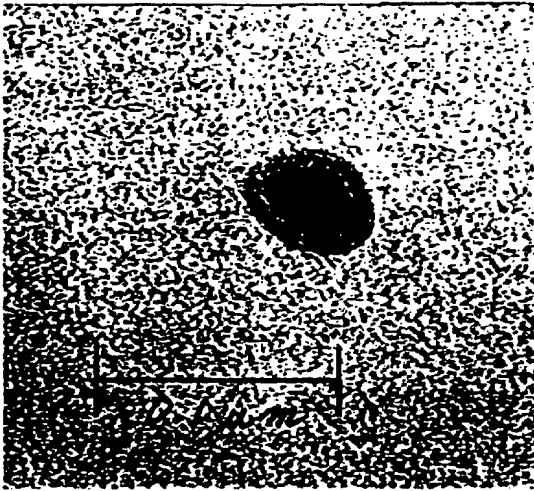
15

き、最近の傾向としては、人工血管、人工肺、人工腎、人工肝などの人工臓器の機能素子としての応用も試みられ始めた。従って、本発明の超微粒子は以上のような各種応用分野において実用化を図るために有利であると思われる。

【図面の簡単な説明】

第1図及び第2図はそれぞれ本発明において有用なマイ

【第1図】



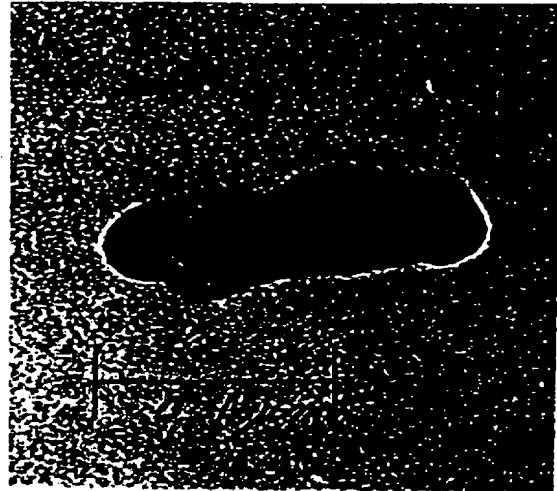
16

クロカプセル化磁性体超微粒子A及びBの電子顕微鏡であり、

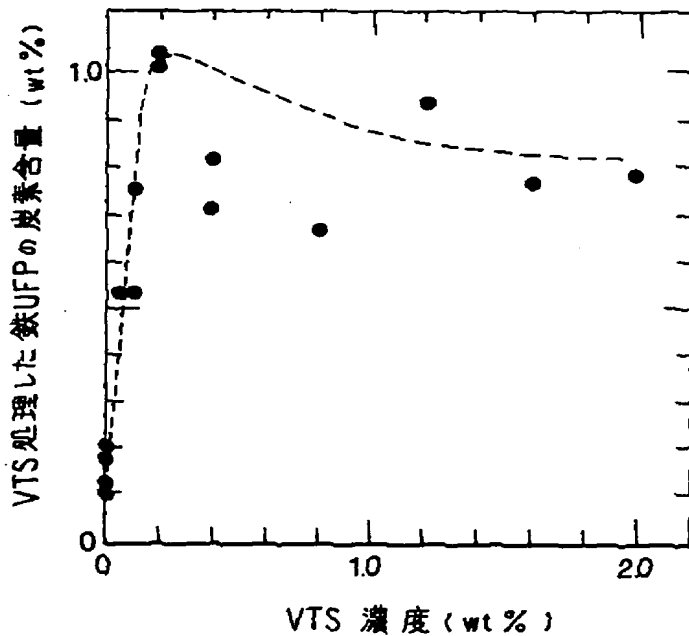
第3図はVTSで処理した鉄超微粒子の炭素含量と、VTS濃度との関係をプロットしたグラフであり、

第4図は、固定化処理中におけるPBS中に残存する牛血清アルブミンの濃度の反応時間に伴う変化を示したものである。

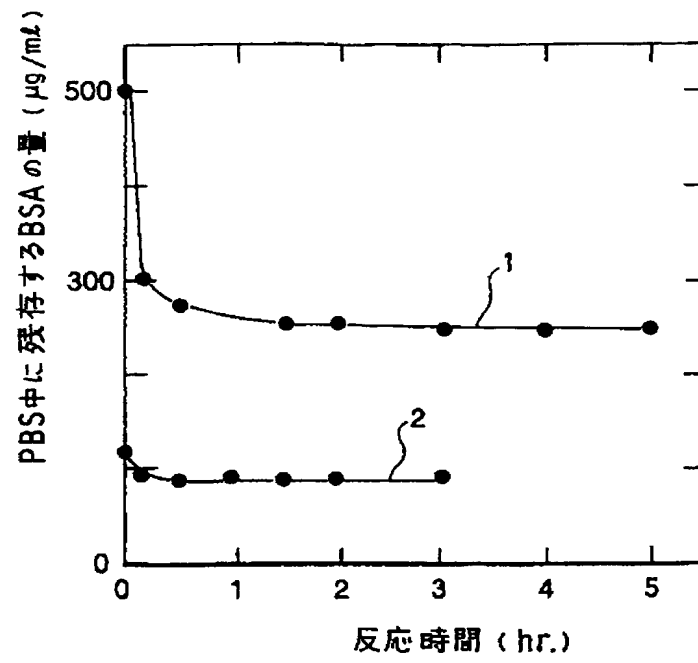
【第2図】



【第3図】



【第4図】



**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☒ FADED TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☒ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☒ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.